

Э.А. Жаврид, Ю.П. Истомин,
Т.М.Литвинова, Л.А. Мавричева

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ВЛИЯНИЯ ВИНОРЕЛЬБИНА, ЭТО- ПОЗИДА И ЦИСПЛАТИНА НА РОСТ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХО- ЛЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ГУ «Научно-исследовательский институт
онкологии и медицинской радиологии им.
Н.Н. Александрова», г. Минск

Изучены рост Са-45 у 50 белых беспородных крыс и процессы метастазирования карциномы легких РЛ-67 у 60 мышей линии C57 Black после одновременного введения 3-х цитостатиков цисплатина, этопозиды и винорельбина и каждого из них в отдельности. Установлено, что максимальным противоопухолевым действием обладает полихимиотерапия, а противометастатическим – каждый химиопрепарат в отдельности.

ВВЕДЕНИЕ

Химиотерапия злокачественных опухолей используется в клинической онкологии с середины XX столетия в 2 вариантах: самостоятельном и дополнительном (неoadъювантном и адъювантном) одновременно с операцией и лучевым лечением [3].

Адъювантная химиотерапия предназначена для эрадикации микрометастазов рака после того, как первичный опухолевый очаг был либо удален, либо излечен лучевым методом. Она применяется при лечении остеогенной саркомы, рака молочной железы, рака яичников, рака тела матки (РТМ), мелкоклеточного рака легкого, колоректального рака и семиномы яичка [5,7].

О необходимости использования у больных РТМ адъювантной химиотерапии свидетельствует появление после хирургического лечения метастазов вне органов малого таза [6,7].

Применение при III-IV стадиях карциномы эндометрия одного цитостатика (цисплатина, карбоплатина, доксорубицина, эпирубицина, 5-фторурацила, паклитаксела) позволило добиться у 21-36% больных полной либо частичной излеченности злокачественного процесса [9,13]. Комбинация двух лекарственных средств (доксорубицин и цисплатин, винорельбин и цисплатин) повысило частоту полной и частичной ремиссии до 40-60% [11,13]. Использование трех цитостатиков в виде схемы САР при РТМ более эффективно, чем введение одного и даже двух химиопрепаратов, так как процент полной и частичной ремиссии в этом случае достигает 60% [10,12].

Низкая эффективность перечисленных схем моно- и полихимиотерапии свидетельствует о необходимости поиска новых, которые позволили бы повысить результаты комплексного лечения больных РТМ с неблагоприятным прогнозом.

Перспективной, на наш взгляд, является комбинация винорельбина, цисплатина и этопозиды, поскольку каждый из этих цитостатиков имеет разный механизм действия и отличается друг от друга своими побочными эффектами [1,4]. Однако в экспериментальной онкологии отсутствуют исследования, в которых изучалось бы одновременное действие указанных выше химиопрепаратов на рост и метастазирование опухолей.

Цель работы – изучить совместное влияние винорельбина, этопозиды, цисплатина на рост и метастазирование злокачественных опухолей в эксперименте и сравнить полученные данные с эффектом, производимым каждым лекарственным средством в отдельности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 50 белых беспородных крыс массой 140-150 г разведения ГУ "Научно-исследовательского института онкологии и медицинской радиологии" им. Н.Н. Александрова с подкожно перевитой саркомой-45 (Са-45) и 60 мы-

шей линии C-57 Black массой 15-20 г разводки питомника «Рапполово» с карциномой легких РЛ-67, которую перевивали животным в подушечку стопы. Материал для перевивки получали из Банка опухолевых штаммов ГУ "Республиканский онкологический научный центр" им. Н.Н. Блохина Российской академии медицинских наук. Рост опухоли изучали у крыс, процесс метастазирования - у мышей.

Во время опытов животные находились в состоянии нейро-лептаналгезии, для создания которого использовали смесь 0,25% раствора дроперидола и 0,005% раствора фентанила в соотношении 2:1 по 0,3 мл на 100 г массы крысы внутримышечно. Мышам для получения седативного эффекта вводили внутривенно 0,25% раствора дроперидола в дозе 2,5 мг/кг.

В зависимости от применяемого цитостатика животные были разделены на 5 групп по 10 крыс и 12 мышей в каждой. Животные первых четырех групп служили контролем, при этом крысам и мышам 1-й группы химиопрепараты не вводили, 2-й группы - на 5 суток после перевивки опухоли вводили внутривенно этопозид (производства фирмы «Добур-Индия») в дозе 20 мг/кг, 3-й - цисплатин производства ООО «ЛЭНС-Фарм» в дозе 5 мг/кг, 4-й - винорельбин производства фирмы «Pierre Fabre» в дозе 2,5 мг/кг, 5-й (опытной) - внутривенно вводили все три лекарственных средства одновременно в дозах, уменьшенных по сравнению с контролем (этопозид - 10 мг/кг, цисплатин - 2,5 мг/кг и винорельбин - 2,0 мг/кг). Превышение указанных выше доз вызывало гибель животных в эксперименте. Изучаемые цитостатики мышам вводили внутривенно.

Для оценки противоопухолевого эффекта использовали следующие критерии:

- динамику роста опухоли путем измерения размеров Са-45 с последующим построением кривых роста. Объем опухоли определяли по формуле Шрека: $V = (a \cdot$

$b \cdot c) \pi/6$, где: a, b, c - линейные размеры опухоли в см, V - объем опухоли в см³ [8];

- среднюю продолжительность жизни (СПЖ) павших животных;

- процент излеченных животных (отсутствие опухоли в течение 90 дней наблюдения после ее перевивки).

Влияние химиопрепаратов на процессы метастазирования изучали в эксперименте на 60 мышях линии C-57 Black. Определение интенсивности метастазирования карциномы РЛ-67 в легкие проводили на 30-е сутки после перевивки опухоли, для чего животных умерщвляли методом дислокации шейных позвонков. Легкие иссекали и фиксировали в жидкости Карнуа, после чего подсчитывали в них число метастазов у мышей каждой группы с помощью стереомикроскопа МБС-9. Оценивали следующие показатели: частоту метастазирования в легких (процент животных с метастазами); общее число метастазов в группе; среднее число метастазов (в пересчете на мышью с развившимися метастазами); индекс торможения (стимуляции) метастазирования, который рассчитывали по формуле:

$$\text{ИТМ} = \frac{(A_k \cdot B_k) - (A \cdot B)}{A_k \cdot B_k} \cdot 100\%,$$

где A_k и A - частота метастазирования в легкие у мышей контрольной и опытной групп соответственно, B_k и B - среднее число метастазов у животных контрольной и исследуемых групп.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методом вариационной статистики с использованием программ Ю.П. Иванова и О.П. Погорелюка [2]. Для оценки достоверности полученных данных рассчитывали t -критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в эксперименте, представлены в табл. 1.

Динамика роста Са-45 у крыс 5-ти групп

Группы	Объем опухоли (см ³), сутки после перевивки										
	6	8	11	14	18	21	25	28	32	35	39
1-я	0,014	1,503	3,11	5,10	7,56	10,93	15,05	18,92	25,91	28,20	31,76
	3±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,005	0,193	0,273	0,241	0,384	0,619	0,584	0,975	2,054	2,106	2,251
2-я	0,014	0,019	0,045	0,115	0,353	0,55	1,082	1,336	1,675	2,072	2,584
	6±	5±	2±	9±	5±	±	±	±	±	±	±
	0,004	0,007	0,015	0,042	0,105	0,139	0,282	0,311	0,395	0,494	0,527*
3-я	0,013	0,067	0,307	0,718	1,452	1,650	2,622	2,919	3,415	3,741	4,566
	1±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,002	0,020	0,076	0,164	0,284	0,306	0,494	0,555	0,745	0,799	0,972*
4-я	0,013	0,048	0,148	0,386	0,799	1,052	1,968	2,437	3,070	4,080	5,021
	9±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,003	0,017	0,059	0,165	0,328	0,433	0,768	0,899	1,115	1,751	2,041*
5-я	0,014	0,009	0,017	0,043	0,179	0,297	0,764	1,083	1,442	2,006	2,343
	1±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,002	0,003	0,009	0,027	0,062	0,105	0,300	0,371	0,464	0,664	0,737*

Примечание: * – достоверно по отношению к объему опухоли у крыс 1-й группы на 39-е сутки ($p < 0,001$).

Эффект от действия химиотерапевтических препаратов проявился через 48 часов после их введения. Каждый из цитостатиков в виде монотерапии тормозил рост Са-45: этопозид в 12,3 раза, цисплатин – в 6,9 раза, винорельбин – в 6,3 раза. Совместное влияние на опухоль трех химиопрепаратов проявилось в уменьшении объема Са-45 в 13,6 раз. Полученные данные статистически достоверны по сравнению с результатами 1-й контрольной группы ($p < 0,001$). Разницы между объемами Са-45 во 2-й, 3-й и 4-й контрольных группах и опытной, где дозы цитостатика были уменьшены, не выявлено ($p > 0,05$). Следует отметить, что объем опухоли у крыс 5-й группы на 39-е сутки не отличался только по своим размерам от объема Са-45 у животных 2-й группы и был в 2 раза меньше, чем объем опухоли в 3-й и 4-й группах. Таким образом, результаты эксперимента свидетельствуют о том, что введение трех химиопрепаратов одновременно в уменьшенных дозах обладает более выраженным, хотя и статистически недостоверным, противоопухолевым эффек-

том, чем монохимиотерапия такими цитостатиками, как цисплатина и винорельбин.

Средняя продолжительность жизни животных в 1-й группе составила ($48,9 \pm 5,09$) дней, во 2-й – ($80,7 \pm 4,3$) дня, в 3-й – ($63,5 \pm 4,3$) дня, в 4-й – ($65,4 \pm 10,5$) дней, в 5-й – ($85,4 \pm 5,09$). Под воздействием химиопрепаратов длительность жизни крыс увеличилась, но подтвердить это статистическим методом удалось только для этопозиды ($p < 0,001$) и полихимиотерапии ($p < 0,001$). Процент излеченных животных во 2-й группе был равен 10, в 3-й – 20, в 4-й – 30, в 5-й – 20. Максимальным и практически не отличающимся противоопухолевым действием обладали этопозид и комбинация трех цитостатиков – винорельбина, цисплатина и этопозиды.

Влияние химиопрепаратов на процессы метастазирования было изучено у 60 мышей линии C-57 Black. Полученные данные после статистической обработки представлены в табл. 2.

Таблица 2

Интенсивность метастазирования у мышей контрольных и опытной групп

Номер группы	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Общее число мышей	12	12	12	12	12
Число мышей с метастазами	12	8	8	11	10
Общее число метастазов	425	25	22	38	81
Среднее число метастазов для всех мышей в группе	35,42±2,65	2,08±0,58*	1,83±0,64*	3,17±0,66*	6,75±1,69*
Среднее число метастазов для мышей с развившимися метастазами	35,42±2,65	3,13±0,58*	2,75±0,77*	3,45±0,65*	8,10±1,72*
Частота метастазирования (%)	100	67	67	92	83
Индекс торможения метастазирования (%)	0	94	94	91	81

Примечание: * – достоверно по отношению к среднему числу метастазов у мышей 1-й группы ($p < 0,001$).

После введения этопозида общее число метастазов по сравнению с количеством очагов опухоли в 1-й группе уменьшилось в 17 раз, цисплатина – в 19,3 раза, винорельбина в 11,2 раз, а после одновременной инъекции 3-х химиопрепаратов, дозы которых были уменьшены по сравнению с контролем, — только в 5,3 раза. У 4 (40%) мышей после введения этопозида метастазы в легких не возникли. Действие цисплатина на процессы метастазирования карциномы РЛ-67 оказалось аналогичным: метастазы в легких не выявлены у 4 (40%) животных. Эффект от введения винорельбина и трех цитостатиков был менее выраженным: метастазы в легких не диагностированы только у 1 (10%) и 2 (20%) мышей соответственно. Среднее количество опухолевых очагов в легких у всех животных, которым вводили цитостатики, было меньше, чем у мышей контрольной группы, что подтверждено статистически ($p < 0,001$).

Частота метастазирования после введения химиопрепаратов во всех группах уменьшалась со 100% до 92-67%. Под влиянием этопозида этот показатель снизился на 33%. Индекс торможения во 2-й - 5-й группах увеличился с 0% до 81-94% по сравнению с 1-й.

Полученные данные свидетельствуют о том, что этопозид и цисплатин более выражено тормозят процессы метастазирования, чем вино-рельбин ($p < 0,05$). В то же время каждый из цитостатиков в отдельности в большей степени угнетают процессы метастазирования карциномы РЛ-67, чем три препарата одновременно ($p < 0,05$). Следовательно, введение экспериментальным животным цитостатиков в виде монотерапии обладает более выраженным противометастатическим эффектом, чем одновременное их применение в уменьшенных дозах. При этом более выраженное тормозящее действие на процессы метастазирования карциномы РЛ-67 отмечено у цисплатина и этопозид.

ВЫВОДЫ

1. Лекарственные средства, используемые в эксперименте, обладают выраженным противоопухолевым и противометастатическим эффектами.

2. Максимальное тормозящее действие на рост Са-45 установлено при одновременном введении 3-х химиопрепаратов: этопозид (10,0 мг/кг), винорельбина (2,0 мг/кг) и цисплатина (2,5 мг/кг), а также при применении монотерапии этопозидом

(20,0 мг/кг). Цитостатическое действие винорельбина (2,5 мг/кг) и цисплатина (5,0 мг/кг), вводимых по отдельности в более высоких дозах, менее выражено.

3. Этопозид, цисплатин и винорельбин способны каждый в отдельности угнетать процессы метастазирования карциномы легких РЛ-67 у мышей в большей степени, чем три химиопрепарата, которые вводили животным в уменьшенных дозах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дыгай А.М., Удут Е.В., Жданов В.В. и др. Миелотоксичность цитостатического препарата растительного происхождения - этопозид // Экспер. и клин. фармакол. - 2001. - №5. - С.31-33.

2. Иванов Ю.Н., Погорелюк О.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. - М., 1990. - 224 с.

3. Клиническая онкология. Справочное пособие под ред. С.З. Фрадкина, И.В. Залуцкого // Минск. - Беларусь. - 2003. - С.134-144.

4. Масная Н.В., Ратнер Г.М.. Влияние платинсодержащих цитостатических препаратов на иммунную и кроветворную системы // Экспер. и клин. фармакол. - 1999. - №1. - т.62. - С.53-55.

5. Поддубная И.В.. Лекарственная терапия злокачественных опухолей (Современное состояние и перспективы) // Русский мед. журнал. - 1998. - т.6. - №10. - С.15-25.

6. Урманчеева А.Ф. Лекарственная терапия эндометрия // Практическая онкология. - 2004. - Т.5, № 1. - С.41-51.

7. Химиотерапия опухолевых заболеваний / Под. ред. Н.И. Переводчиковой, Москва, 2000. - 292 с.

8. Эмануэль Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М. - 1977. - С.219.

9. Ball H.G., Blessing J.A., Lenhtz S.S. et al. A phase II trial of paclitaxel in patients with advanced or recurrent adenocarcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology

Group study// Gynecologic Oncology. - 1996. - Vol. 62, N 2. - P.287-281.

10. Cornelison T.L., Baker T.R., Priver M.S. et al. Cisplatin, adriamycin, etoposide, megestrol acetate versus melphalan, 5-fluorouracil, medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometrial carcinoma// Gynecologic Oncology. - 1995. - Vol. 59, N 2. - P.243-248.

11. Gebbia V., Testa A., Borsellillino N. et al. Cisplatin and vinorelbine in advanced and/or metastatic adenocarcinoma of the endometrium: a new highly active chemotherapeutic regiment// Ann. Oncol. - 2001. - Vol.12. - P.767-772.

12. Hancock K.C., Freedman R.S., Edwards C.L. et al. Use of cisplatin, doxorubicin, and cyclophosphamide to treat advanced and recurrent adenocarcinoma of the endometrium// Cancer Treatment Reports. - 1986 - Vol.70, N 6. - P.789-791.

13. Muss H. Chemotherapy of metastatic endometrial cancer // Sem. Oncol. - 1994. - Vol. 21. - P.107-113.

SUMMARY

E.A. Zhavrid, Yu.P. Istomin, T.M. Litvinova,
L.A. Mavrichева

EVALUATION OF THE COMPLEX EFFECT OF VINORELBINE, ETOPOSIDE AND CISPLATIN ON THE GROWTH AND METASTASIZING OF EXPERIMENTAL TUMORS

The growth of Ca-45 in 50 white random-bred rats and LC-67 lung carcinoma metastasizing in 60 C57 Black mice were investigated after simultaneous administration of three cytostatics (cisplatin, etoposide and vinorelbine) and each of them separately. Multidrug chemotherapy was found to produce maximum antitumor effect, and each drug applied separately demonstrated antimetastasizing activity.

Key words: rats, mice, Ca-45, LC-67 carcinoma, etoposide, vinorelbine, cisplatin.
